پژوهش‌های حبوبات ایران
جلد۹ شمارهٔ۱، نیمهٔ اول ۱۳۹۷، صفحهٔ ۱۷۶-۱۶۵

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 9, No. 1, 2018, p. 165-176
DOI: 10.22067/ijpr.v9i1.55164

اثر تلقیح با سویه‌های باکتری ریزوبیوم و سطوح نیتروژن بر خصوصیات کمّی و کیفی و محتوی نیتروژن ارقام لوبیاسفید در شرایط آب‌وهوایی استان مرکزی

مسعود دادیور[1*]، محمدعلی خودشناس[2] و جواد قدبیک‌لو[2]

۱- مربی پژوهشی، کارشناس‌ارشد خاکشناسی، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع‌طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

۲- مربی پژوهشی، کارشناس‌ارشد خاکشناسی، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع‌طبیعی استان مرکزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۶

چکیده

نقش کاربرد ریزوبیوم هم از جنبه اقتصادی و هم از جنبه زیست‌محیطی شایان توجه می‌باشد. با توجه به این‌که استان مرکزی از مناطق مهم کشت لوبیا در کشور محسوب می‌شود، لذا این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج سویه باکتری، مصرف کود نیتروژنه (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن) و شاهد (بدون تلقیح و مصرف کود) و سه رقم لوبیاسفید با سه تکرارطی دو سال (۸۹-۱۳۸۸) در ایستگاه ملی لوبیا خمین اجرا شد. کود نیتروژن در سه تقسیط (یک‌سوم موقع کاشت، یک‌سوم اواسط رشد رویشی و یک‌سوم در مرحله گلدهی) استفاده شد. نتایج نشان داد عامل رقم بر صفات وزن۱۰۰دانه، تعداد دانه در غلاف، وزن ماده‌خشک در سطح احتمال ۱درصد و بر صفت تعداد غلاف در بوته در سطح ۵درصد تفاوت معنی‌داری دارد. عامل باکتری در سطح احتمال ۱درصد برصفات نیتروژن دانه، وزن ماده‌خشک، نیتروژن مرحله گلدهی، وزن ماده‌خشک مرحله گلدهی و نیتروژن کاه و در سطح احتمال ۵درصد بر صفت تعداد دانه در غلاف تفاوت معنی‌داری را ایجاد نمود. اثر متقابل رقم و ریزوبیوم بر صفات وزن۱۰۰دانه (بیشترین مقدار ۳۲/۰۱گرم از رقم درسا و سویه R156)، وزن ماده‌خشک، وزن ماده‌خشک مرحله گلدهی (بیشترین مقدار به میزان ۷۸/۳گرم از رقم دانشکده و سویه R116) و نیتروژن کاه در سطح احتمال ۱درصد و بر صفات تعداد غلاف در بوته (بیشترین تعداد ۱۰/۷ از رقم درسا و مصرف ۱۰۰کیلوگرم در هکتار نیتروژن که تفاوت معنی‌داری با رقم شکوفا و سویه R156 به تعداد ۱۰/۵ نداشت) و نیتروژن مرحله گلدهی (۱/۹۷درصد از رقم شکوفا و مصرف۱۰۰کیلوگرم نیتروژن و ۱/۹۳درصد از رقم دانشکده و رقم R133 که تفاوت معنی‌داری نداشتند) در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. محتوی بالای نیتروژن دانه در تیمارهای تلقیح‌شده تأکیدی بر استفاده ریزوبیوم در مزارع لوبیاکاری است. در بین سویه‌های باکتریایی استفاده ازسویه R156 به‌عنوان سویه مناسب قابل‌توصیه است.

کلمات کلیدی: حبوبات، عملکرد، کودزیستی، کیفیت

مقدمه

اهمیت کشاورزی اکولوژیک و تأکید به عدم و یا استفاده کمتر از کودهای شیمیایی جهت تولید محصولات با کیفیت مطلوب و حفظ و ارتقای سلامتی محیط‌زیست و جامعه در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. با عنایت به این‌که لوبیا قادر است قسمت عمده‌ای از نیتروژن مورد نیاز خود را از طریق رابطه همزیستی با باکتری ریزوبیوم به‌دست آورد، لذا استفاده از این پتانسیل راهکار مناسبی برای حرکت در مسیر کشاورزی اکولوژیک می‌باشد.

تثبیت بیولوژیک نیتروژن توسط بیجرینک در سال ۱۹۰۱ میلادی کشف شد که به‌وسیله گروه خاصی از پروکاریوت‌ها انجام می‌شود. این ارگانیسم‌ها با استفاده از آنزیم نیتروژناز نیتروژن اتمسفر (N_2) را به آمونیم تبدیل می‌کنند که برای گیاهان به‌راحتی قابل استفاده می‌باشد (Wagner, 2011).

توانایی بقولات در تثبیت نیتروژن اتمسفر برتری آنها را نسبت به گیاهان غیربقولات در خاک‌های دارای نیتروژن کم باعث می‌شود. در میان بقولات، به‌هرحال لوبیا تثبیت‌کننده نیتروژن ضعیف‌تری می‌باشد (Kabahuma, 2013).

در آزمایشی اثر سویه‌های مختلف ریزوبیوم بر روی لوبیاچیتی محلی خمین مثبت ارزیابی شد. هرچند بین تیمارهای باکتریایی و کودی تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده

*نویسنده مسئول: dadivarm@yahoo.com

نگردید، با این حال بالاترین عملکرد دانه از تیمار باکتریایی به‌دست آمد (Khodshenas, 2004).

در تحقیقی با استفاده از ریزوبیوم عملکرد دانه لوبیا نسبت به شاهد، ۳۳درصد افزایش نشان داد. حتی این افزایش نسبت به مصرف ۲۰۰کیلوگرم اوره در هکتار نیز ملاحظه شد (Moshiri *et al*., 2003).

Dadivar *et al*, (2007) با کاربرد ریزوبیوم برای ارقام لوبیاقرمز مشاهده کردند استفاده از تیمار باکتریایی نسبت به تیمار کودی عملکرد دانه را به‌طور معنی‌داری افزایش داد.

Ghadiry *et al*, (2007) ملاحظه کردند استفاده از سویه‌های ریزوبیوم به‌طور چشمگیری درصد جوانه‌زنی بذور لوبیاقرمز را نسبت به مصرف کود نیتروژنه افزایش دادند.

Robert & Schmidt (1983) با مطالعه تغییرات جمعیتی و دوام باکتری‌های همزیست با لوبیا در خاک و ریزوسفر دریافتند که دوام این باکتری‌ها در ریزوسفر بهتر می باشد. در ضمن نشان دادند که سویه‌های کارآمدی که به‌عنوان مایه تلقیح استفاده می‌شدند، حتی در حضور جمعیت بالای بومی خاک قدرت اشغال غده‌ها را دارند.

Giller & Wilson (1991) اظهار داشتند نیتروژن تثبیت‌شده توسط لوبیا تا۷۰درصد از نیازهای نیتروژنه گیاه را پاسخگو می‌باشد.

مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که یکی از دلایل افزایش سهم تثبیت بیولوژیکی از ۷۲درصد به ۹۰درصد در تأمین نیتروژن لوبیا در شرایط کشت مخلوط، کاهش میزان نیترات خاک بر اثر جذب توسط گیاه همراه می‌باشد (Sakaka *et al*, 2001).

مطالعه‌ای توسط Bhattarai *et al*, (2011) با چهار تیمار ریزوبیوم، میکوریزا، کود دی‌آمونیم فسفات به میزان ۱۰۰کیلوگرم در هکتار و شاهد بر روی لوبیاقرمز انجام شد. آن‌ها مشاهده کردند تیمار تلقیح‌شده با ریزوبیوم تفاوت معنی‌داری در سطح ۵درصد بر صفات وزن ماده‌خشک، طول ریشه و اندام هوایی، تعداد غلاف و تعداد گره‌ها نسبت به سایر تیمارها نشان داد. میزان عملکرد دانه تیمار تلقیح‌شده با ریزوبیوم با تیمار کود داده‌شده تفاوت معنی‌داری نداشت.

Tymoori *et al*, (2011) تأثیر ریزوبیوم و میکوریزا را بر روی سه رقم لوبیا بررسی نمودند. نتایج نشان داد بالاترین عملکرد دانه به میزان ۲۶۶۵کیلوگرم در هکتار از تیمار تلقیح دوگانه میکوریزا و ریزوبیوم در رقم گلی به‌دست آمد. کمترین عملکرد دانه نیز از تیمار مصرف میکوریزا و عدم مصرف ریزوبیوم در رقم درخشان با ۱۱۷۲کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد.

Hemati *et al*, (2012) طی دو سال آزمایش در ایستگاه اقلید به این نتیجه رسیدند که تلقیح بذر لوبیا با ریزوبیوم ضمن حصول حداکثر عملکرد از هدررفت کودهای شیمیایی نیتروژه جلوگیری می‌کند.

Ghasemzadeh Ghanjehei & Asadi Rahmani (2011) در خراسان رضوی طرحی را با ۱۰سویه باکتری و ۲۰۰ و ۴۰۰کیلوگرم اوره در هکتار روی لوبیا انجام دادند. نتایج نشان داد بیشترین عملکرد دانه مربوط به تیمار تلقیحی با سویه ریزوبیوم L_160 به میزان ۲۵۰۰کیلوگرم در هکتار بود که تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد و کودی نشان داد.

در استان مرکزی لوبیا از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است که بر طبق آخرین آمار مساحت مناطق لوبیاکاری استان حدود ۱۸هزار هکتار است که نزدیک ۲۰درصد آن به لوبیاسفید اختصاص دارد. لذا شناخت سویه‌های ریزوبیوم مناسب با ارقام توصیه‌شده جهت کاشت درمنطقه حائز اهمیت است. با توجه به این‌که در سال‌های گذشته با اجرای طرح‌های تحقیقاتی سویه‌های ریزوبیوم مناسب لوبیاچیتی محلی خمین و ارقام رایج لوبیاقرمز مشخص شده است، ضرورت دارد سویه‌های ریزوبیوم مناسب با ارقام لوبیاسفید شناسایی گردد.

مواد و روش‌ها

ایستگاه ملی تحقیقات خمین در منطقه خرم دشت و ۸کیلومتری شهرستان خمین با طول جغرافیایی ۴۹درجه و ۵۷دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۳درجه ۳۹دقیقه و در ارتفاع ۱۹۳۰متری از سطح دریا واقع شده است. میانگین۱۰ساله بارندگی در این منطقه بر اساس آمار هواشناسی۳۰۰میلی‌متر می‌باشد. شهرستان خمین که دشت وسیع و حاصلخیزی است، از شمال به شهرستان‌های اراک و شازند، از مشرق به شهرستان محلات، از جنوب به شهرستان گلپایگان و از مغرب به شهرستان الیگودرز محدود است. وسعت آن ۲۰۲۲کیلومتر مربع بوده و اطراف آن را کوه‌های مرتفعی مانند الوند، لکان و دز فراگرفته است. آب‌وهوای خمین از نوع معتدل کوهستانی و نزدیک به آب‌وهوای نیمه‌صحرایی است. زمستان‌ها در آن بسیار سرد و تابستان‌ها معتدل و نسبتاً گرم می‌باشد (Dorri & Ghadiry, 2010).

بر اساس نقشه رژیم‌های حرارتی و رطوبتی خاک، محدوده مورد بررسی دارای رژیم رطوبتی زریک و رژیم حرارتی خاک مزیک می باشد که وضعیت مورفولوژیکی خاک‌ها و مشاهدات و بررسی‌های صحرایی و پوشش گیاهی نیز مؤید این موضوع است (Khoshfetrat, 1998).

در سال اول اجرای این طرح نمونه‌برداری از ریشه لاین های لوبیاسفید کشت‌شده در منطقه صورت گرفت و در سال های دوم و سوم در مزرعه به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با دو عامل سویه باکتری با هفت تیمار (شاهد=N_1، مصرف کود شیمیایی=N_2، N_3=R134، N_4 =R156، N_5=R116، N_6=R133 و N_7=R109) و سه رقم لوبیاسفید با نام‌های دانشکده(V_1)، شکوفا(V_2) و درسا(V_3) در سه تکرار اجرا شد. تیمار مصرف کود نیتروژنه (۱۰۰کیلوگرم در هکتار نیتروژن) در سه تقسیط (یک‌سوم موقع کاشت، یک‌سوم اواسط رشد رویشی و یک‌سوم در مرحله گلدهی) و تیمار شاهد (بدون مصرف کود و باکتری) درنظر گرفته شد. در تیمارهای باکتریایی۲۰کیلوگرم در هکتار نیتروژن به‌عنوان استارتر مصرف گردید. طول هر کرت ۶متر و عرض آن ۲متر، فاصله خطوط کاشت از یکدیگر۵۰سانتی‌متر و فاصله بذور از هم در روی خط کشت۱۰سانتی‌متر لحاظ شد. نمونه‌برداری در دو مرحله انجام گرفت:

۱- در مرحله ۵۰درصد گلدهی نمونه‌برداری از پنج بوته برای تعیین وزن‌خشک اندام هوایی و درصد نیتروژن

۲- در آخر فصل رشد صفات زیر یادداشت‌برداری شد: تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن۱۰۰دانه، مقدار محصول دانه، وزن خشک کل اندام هوایی و درصد نیتروژن اندازه‌گیری شد. همچنین اندازه‌گیری خصوصیات خاک و آب با استفاده از دستورالعمل مؤسسه تحقیقات خاک‌وآب انجام شد (Ali ehyaee & Behbahanizadeh, 1993). نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزارهای Excel و Spss مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس دوساله (جدول ۳) نشان داد عامل رقم بر صفات وزن۱۰۰دانه، تعداد دانه در غلاف، وزن ماده‌خشک در سطح ۱درصد و بر صفت تعداد غلاف در بوته در سطح ۵درصد تفاوت معنی‌داری داشت. عامل نیتروژن در سطح ۱درصد بر صفات نیتروژن دانه، وزن ماده‌خشک، نیتروژن مرحله گلدهی، وزن ماده‌خشک مرحله گلدهی و نیتروژن کاه و در سطح ۵درصد بر صفت تعداد دانه در غلاف، تأثیر معنی‌داری را ایجاد نمود. اثر متقابل رقم و نیتروژن بر صفات وزن۱۰۰دانه، وزن ماده‌خشک، وزن ماده‌خشک مرحله گلدهی و نیتروژن کاه در سطح ۱درصد و بر صفات تعداد غلاف در بوته و نیتروژن مرحله گلدهی در سطح ۵درصد تأثیر معنی‌داری را نشان داد.

جدول ۱- نتایج خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه مرکب خاک قبل از کشت طی دو سال اجرای آزمایش

Table1- Soil analysis results during the two years of the experiment

سال Year	عمق Depth	هدایت الکتریکی Electrical conductivity	اسیدیته pH	فسفر Phosphorous	پتاسیم Potassium	آهن Iron	منگنز Manganese	روی Zinc	مس Cupper	نیتروژن Nitrogen	مواد خنثی شونده Calcium carbonate equivalent	کربن آلی Organic carbon	رس Clay	سیلت Silt	شن Sand	بافت Texture
	(سانتیمتر) cm	(دسی زیمنس بر متر) dS/m		میلیگرم در کیلوگرم ($mgkg^{-1}$)							درصد (%)					
اول(First)	0-30	1.8	8.1	17.9	292	4.3	11.4	2.5	1.1	0.06	23.6	0.57	22	38	40	لوم (Loam)
دوم (second)	0-30	1.7	7.9	13.7	382	5.4	8.8	1.8	1.8	0.07	22.6	0.68	22	36	42	لوم (Loam)

جدول ۲- نتایج خصوصیات شیمیایی آب

Table 2. Water analysis results

هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) Electrical conductivity (dSm^{-1})	اسیدیته pH	بی‌کربنات Bicarbonate	کربنات Carbonate	کلرور Chloride	سولفات Sulfate	سدیم Sodium	کلسیم+منیزیم Calcium	نسبت جذب سدیم Sodium adbsorption ratio
		میلی‌اکی‌والان در لیتر ($meql^{-1}$)						
0.7	7.8	3.2	0	0.5	3.9	1.9	5.7	1.1

نیتروژن گلدهی

اثر نیتروژن درسطح ۱درصد و رقم در نیتروژن در سطح ۵درصد بر نیتروژن مرحله گلدهی معنی‌دار بود (جدول۳). بالاترین مقدار نیتروژن گلدهی از اثر متقابل رقم در نیتروژن از تیمار V_3N_4 به‌دست آمد (جدول۴). در رابطه با نیتروژن مرحله گلدهی بیشترین مقدار با ۱/۹۷درصد مربوط به تیمار V_3N_4 (رقم درسا و سویه R156) و کمترین به میزان ۱/۰۸درصد مربوط به تیمار V_3N_1 (رقم درسا وشاهد) به‌دست آمد. محتوای بالای نیتروژن در تیمار تلقیح‌شده نتیجه کاربرد ریزوبیوم را موجه می‌سازد.

وزن ماده‌خشک گلدهی

جدول تجزیه واریانس دوساله (جدول۳) نشان داد که عامل رقم، نیتروژن و رقم در نیتروژن در سطح ۱درصد بر صفت وزن ماده‌خشک گلدهی معنی‌دار بود. مطابق جدول۴، بالاترین مقدار وزن ماده‌خشک در مرحله گلدهی مربوط به تیمار N_1V_5 به میزان ۷۸/۳ گرم بود. بیشترین وزن ماده‌خشک در مرحله گلدهی به‌میزان ۷۸/۳گرم مربوط به تیمار V_1N_5 (رقم دانشکده و سویه R116) و کمترین مقدار به میزان ۴۴/۹گرم از تیمار V_2N_1 (رقم شکوفا و شاهد) به‌دست آمد.

عملکرد دانه

بر اساس نتایج، فقط عامل سال در نیتروژن بر صفت عملکرد دانه در سطح ۵درصد معنی‌دار بود (جدول۳). همچنین در سال اول بالاترین عملکرد از تیمار N_2 و سپس تیمار باکتریایی N_4 و در سال دوم بالاترین عملکرد از تیمارهای باکتریایی N_4 و N_5 به‌دست آمد (شکل۲). با توجه به عدم اختلاف بین سویه‌های ریزوبیوم و مصرف کود نیتروژن و درنظرگرفتن مزایای استفاده ازریزوبیوم، کاربرد آن در مزارع از لحاظ اقتصادی و زیست‌محیطی قابل‌توصیه است (Asadi Rahmani, 2002).

وزن۱۰۰دانه

جدول تجزیه واریانس دوساله (جدول۳) نشان داد که اثر رقم و رقم در نیتروژن در سطح ۱درصد بر وزن۱۰۰دانه معنی‌دار بود.

در رابطه با صفت وزن۱۰۰دانه بیشترین مقدار به میزان ۳۲/۰۱گرم مربوط به تیمار V_3N_4 (رقم درسا و سویه R156) و کمترین مقدار به میزان ۲۶/۷۲گرم مربوط به تیمار V_1N_5 (رقم دانشکده و سویه R116) مربوط بود (جدول۴). همچنین بالاترین وزن۱۰۰دانه در رقم دانشکده از تیمار باکتریایی N_6، در رقم درسا از تیمار باکتریایی N_4 و در رقم شکوفا از تیمار N_2 و تیمارهای باکتریایی N_4 و N_3 حاصل شد (شکل۱). همچنین در رقم درسا تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد که نشان می‌دهد این رقم حساسیت زیادی به نوع سویه ریزوبیوم دارد. این نتایج با تفاوت ژنتیکی بین ارقام نیز سازگاری دارد. برتری چشمگیر میانگین مربعات، نشان‌دهنده سهم قابل‌توجه منابع ژنتیکی روی این پارامتر در قیاس با اثر تیمارهای آزمایش می‌باشد (جدول۳).

تعداد دانه در غلاف

اثر رقم در سطح ۱درصد و اثر نیتروژن در سطح ۵درصد برتعداد دانه در غلاف معنی‌دار بود (جدول۳). بالاترین تعداد دانه در غلاف از کاربرد تیمار باکتریایی N_7 به‌دست آمد که با تیمار N_2 تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول۵). لازم به ذکر است که اهمیت رقم در این رابطه بیشتر از اثر نیتروژن و سویه های باکتری است.

تعداد غلاف در بوته

اثر رقم، رقم در نیتروژن و نیتروژن در سال در سطح ۵درصد معنی‌دار بود (جدول۳). مقایسه میانگین اثر متقابل نیتروژن و رقم نیز نشان داد که تیمار V_3N_2 (رقم درسا با مصرف ۱۰۰کیلوگرم نیتروژن) با ۱۰/۷ بیشترین تعداد غلاف در بوته را دارا بود که با تیمارهای V_2N_4 (رقم شکوفا و سویه R156) و V_1N_6 (رقم دانشکده و سویه R133) و V_3N_7 (رقم درسا و رقم R109) تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول۴). کمترین تعداد نیز مربوط به تیمار V_2N_1 (رقم شکوفا و شاهد) با ۶/۶غلاف بود.

جدول ۳ - نتایج تجزیه واریانس دوساله
Table3- Analysis of variance for two years

منابع تغییر Source of variation	نیتروژن کاه straw nitrogen	وزن ماده خشک گلدهی flowering stage dry matter weight	نیتروژن گلدهی flowering stage nitrogen	وزن ماده خشک dry matter weight	نیتروژن دانه seed nitrogen	غلاف در بوته pods per plant	دانه در غلاف seed per pod	وزن صد دانه 100-seed weight	عملکرد دانه Grain yield	وزن کاه Straw yield
(year) سال	7.93	14.13	0.06	68.6	0.008	11.82	0.09	0.73	28705872	19199716
(replication) تکرار	0.01	312.49	0.26	755.5	0.008	6.70	1.23	18.89	773838	630145
(cultivar) رقم	0.0001	**549.08	0.04	1456.9	0.055	*18/17	**3.84	**43.20	204489	789458
(year*cultivar) رقم*سال	0.0001	0.940	0.02	54.31	0.029	2.53	0.70	2.10	413933	230766
(nitrogen) نیتروژن	**0.09	**776.1	**1.08	**16792.6	**0.288	4.95	*1.19	6.46	660871	466424
(nitrogen*year) سال*نیتروژن	0.01	23.89	0.06	902.3	0.014	*15.72	0.20	0.06	*434015	**312644
(nitrogen*cultivar) رقم*نیتروژن	**0.02	**185.67	*0.08	**2715.1	0.051	*10.62	0.36	**10.40	254930	387797
رقم*نیتروژن*سال (year*nitrogen*cultivar)	0.002	22.51	0.03	225.5	0.025	4.54	0.71	0.60	296715	263115
(residual) باقیمانده	0.01	77.79	0.04	663.8	0.056	5.36	0.44	2.98	156725	101037
(total) کل	0.01	127.08	0.1	1605.4	0.059	6.52	0.56	4.61	470121	354632
%CV	26.1	14.4	12.0	15.8	5.9	26.1	14.2	5.9	15.4	12.0

* و ** به ترتیب در سطح پنج و یک درصد معنی دار هستند
significant at α=0.05 and α=0.01 respectively** and*

نیتروژن دانه

اثر عامل نیتروژن بر صفت نیتروژن دانه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول۳). همچنین بالاترین نیتروژن دانه به‌ترتیب از تیمارهای N_5، N_4 و N_3 به‌دست آمد (جدول۵) که تفاوت معنی‌داری با تیمار N_2 (مصرف کود) داشت که این نتیجه، تأییدی بر کاربرد ریزوبیوم می‌باشد. غلظت بالای نیتروژن در تیمار شاهد (۲/۷۲درصد) نشان‌دهنده وجود و فعالیت نسبتاً مؤثر ریزوبیوم‌های بومی یا مقدار نیتروژن قابل استفادۀ بالا در خاک است (Giller & Wilson, 1991).

وزن ماده‌خشک

جدول تجزیه واریانس دوساله (جدول۳) نشان داد که اثر عامل نیتروژن و رقم در نیتروژن در سطح ۱درصد بر صفت وزن ماده‌خشک معنی‌دار بود. بیشترین میزان وزن ماده‌خشک به مقدار ۲۰۹۳کیلوگرم بر هکتارمربوط به تیمار V_2N_4 (رقم شکوفا و سویه R156) و کمترین مقدار به میزان ۹۷۳کیلوگرم بر هکتار مربوط به تیمار V_2N_1 (رقم شکوفا و مصرف کود) بود (جدول۴) که نشان‌دهندۀ نوسانات زیاد در رقم V_2 است. در تمام تیمارها شاهد کمترین مقدار را به‌خود اختصاص داد. در رقم‌های V_1 و V_2 تمام تیمارهای مصرف ریزوبیوم برتر از تیمار مصرف کود بودند که می‌تواند در برقراری همزیستی موثرتر این ارقام با ریزوبیوم باشد.

نیتروژن کاه

اثر نیتروژن و رقم در نیتروزن در سطح ۱درصد بر نیتروژن کاه معنی‌دار بود (جدول۳). مقایسه میانگین اثر متقابل نیتروژن و رقم (جدول ۴) نیز نشان داد که بالاترین نیتروژن کاه از تیمار V_1N_6 به‌میزان ۰/۴۸درصد به‌دست آمد. در رابطه با نیتروژن کاه تیمار V_1N_6 (رقم دانشکده و سویه R133) به میزان ۰/۴۸درصد بیشترین و تیمار V_2N_1 (رقم شکوفا و شاهد) به‌میزان ۰/۲۳درصد کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند.

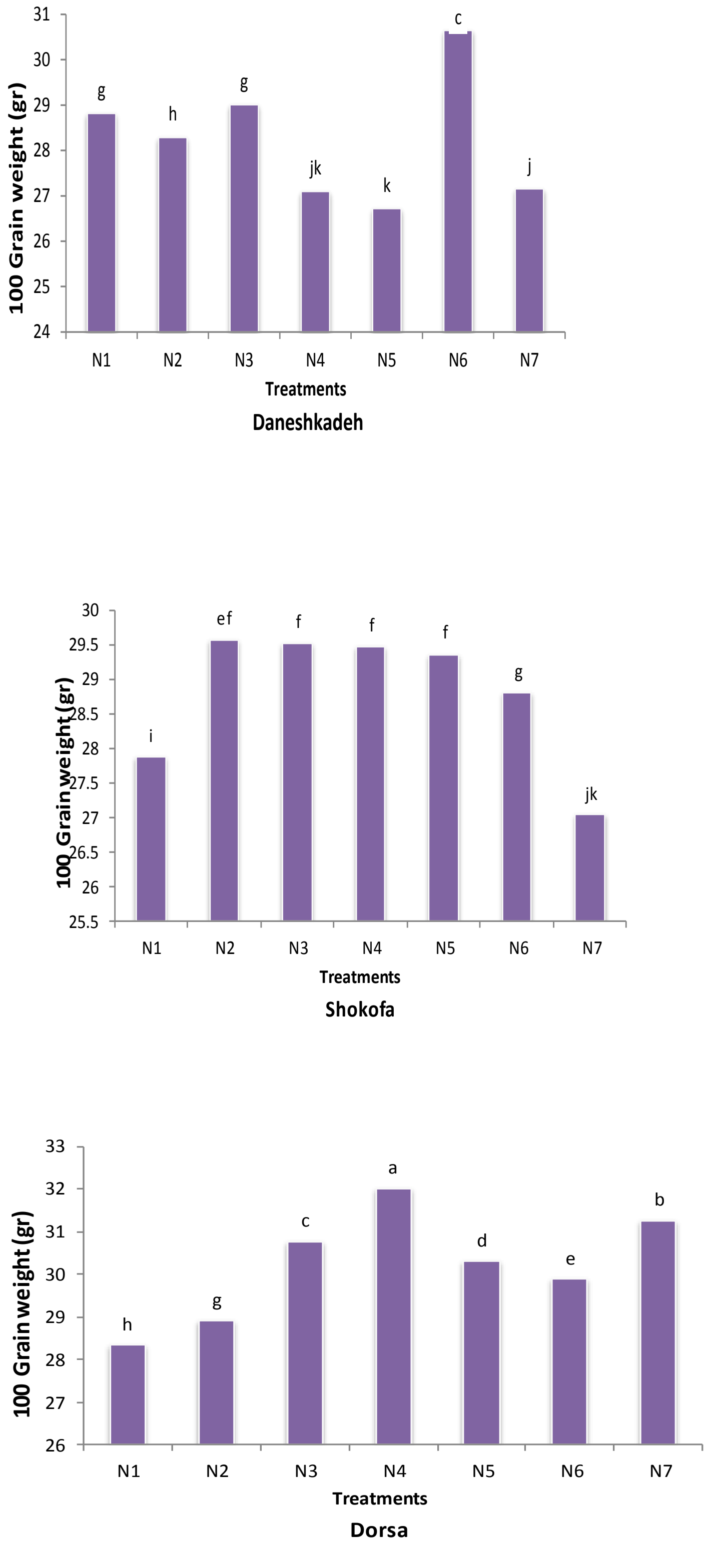
جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل نیتروژن و رقم

Table 4. Mean comparison interaction effect of nitrogen and bean cultivars

تیمارها Treatments	وزن ماده‌خشک گلدهی (گرم در ۵بوته) Flowering stage dry matter weight (gr/5 plants)	محتوی نیتروژن اندام هوایی مرحله گلدهی (درصد) Nitrogen content at flowering stage (%)	وزن ماده‌خشک اندام هوایی (کیلوگرم در هکتار) Dry matter weight (kgha^{-1})	تعداد غلاف در بوته Pods per plant	وزن۱۰۰دانه (گرم) 100-seed weight (g)	نیتروژن کاه (درصد) Straw nitrogen (%)
V_1N_1	46.2^{m}	1.23^{l}	1073^{l}	8.2^{ghi}	28.82^{g}	0.25^{j}
V_1N_2	62.9^{efg}	1.77^{ef}	1093^{l}	8.1^{hi}	28.29^{h}	0.35^{g}
V_1N_3	59.0^{h}	1.53^{j}	2083^{ab}	8.2^{ghi}	29.01^{g}	0.28^{i}
V_1N_4	63.4^{ef}	1.82^{d}	1878^{d}	7.3^{j}	27.10^{jk}	0.43^{cd}
V_1N_5	78.3^{a}	1.77^{ef}	1577^{ij}	9.9^{cd}	26/72^{k}	0.32^{h}
V_1N_6	68.4^{c}	1.93^{ab}	1747^{efg}	10.4^{ab}	30.65^{c}	0.48^{a}
V_1N_7	55.7^{jk}	1.75^{fg}	1557^{j}	8.5^{gh}	27/16^{j}	0.46^{ab}
V_2N_1	44.9^{m}	1.13^{m}	973^{m}	6.6^{k}	27/88^{i}	0.23^{k}
V_2N_2	62.5^{efg}	1.62^{h}	1477^{k}	8.3^{ghi}	29.57^{ef}	0.38^{f}
V_2N_3	58.7^{hi}	1.53^{j}	1777^{e}	9.7^{cde}	29.52^{f}	0.40^{ef}
V_2N_4	55.5^{k}	1.90^{bc}	2093^{a}	10.5^{ab}	29.47^{f}	0.43^{cd}
V_2N_5	57.0^{ijk}	1.80^{de}	1640^{h}	7.7^{ij}	29.37^{f}	0.40^{ef}
V_2N_6	63.3^{ef}	1.88^{c}	1758^{ef}	8.6^{g}	28.81^{g}	0.42^{de}
V_2N_7	57.3^{ij}	1.57^{ij}	1612^{hi}	6.7^{k}	27.04^{jk}	0.32^{h}
V_3N_1	52.4^{l}	1.08^{n}	1023^{m}	9.2^{f}	28.35^{h}	0.24^{jk}
V_3N_2	76.7^{b}	1.78^{df}	2040^{b}	10.7^{a}	28.92^{g}	0.46^{ab}
V_3N_3	65.2^{d}	1.82^{d}	1970^{c}	7.6^{j}	30.78^{c}	0.40^{cf}
V_3N_4	61.2^{g}	1.97^{a}	1710^{fg}	9.4^{f}	32.01^{a}	0.45^{bc}
V_3N_5	62.2^{fg}	1.60^{hi}	1700^{fg}	10.1^{bc}	30.31^{d}	0.32^{h}
V_3N_6	64.1^{de}	1.72^{g}	1745^{efg}	9.6^{def}	29.89^{e}	0.38^{f}
V_3N_7	66.9^{c}	1.47^{k}	1638^{h}	10.4^{ab}	31.27^{b}	0.32^{h}
[۱]SEM	0.569	0.013	1.663	0.149	0.111	0.006

1. Standard Error Mean

۱- میانگین خطای استاندارد



شکل ۱- اثر تیمارهای نیتروژن بر وزن۱۰۰دانه در ارقام لوبیاسفید

Fig. 1. Effect of nitrogen treatments on 100- seed weight in white bean cultivars

وزن کاه

عامل نیتروژن در سال بر عملکرد کاه در سطح ۱درصد معنی‌دار بود (جدول۳). در سال اول بالاترین عملکرد کاه از تیمار N_2 به‌دست آمد و در بین تیمارهای باکتریایی نیز تیمار N_4 بالاترین عملکرد کاه را به‌خود اختصاص داد (شکل۳). در سال دوم نیز بالاترین عملکرد کاه از تیمارهای N_4 و N_6 حاصل شد. Bhattarai *et al* (2011) نیز با تلقیح لوبیا توسط ریزوبیوم افزایش تعداد غلاف در بوته و وزن ماده‌خشک را شاهد بودند.

اثر کاربرد ریزوبیوم و کود طی دو سال انجام پروژه تفاوت معنی‌داری را بر صفات وزن کاه و عملکرد دانه داشت و بالاترین مقدار به‌ترتیب به میزان ۳۳۳۱/۱ و ۳۳۹۸/۹کیلوگرم در هکتار در سال اول و با کاربرد ۱۰۰کیلوگرم نیتروژن حاصل شد (شکل۲ و ۳). همچنین کمترین مقادیر وزن کاه و عملکرد دانه به‌ترتیب به‌میزان ۱۸۱۸/۳ و ۱۶۷۰/۶کیلوگرم در هکتارمربوط به تیمار شاهد در سال دوم بود. تحقیقات Ghasemzadeh (2011)، Ganjehei (2011)، Tymoori، Dadivar *et al* (2007)، Moshiri (2003) و Khodshenas (2004) نیز مؤید افزایش عملکرد دانه لوبیا با کاربرد ریزوبیوم بود.

تأثیر کاربرد ریزوبیوم و کود بر دو صفت تعداد دانه در غلاف و نیتروژن دانه در جدول ۵ نشان داده شده است. بیشترین تعداد دانه در غلاف به میزان ۴/۹۷ از تیمار N_7 (سویه R109) و کمترین مقدار از تیمار N_1 (شاهد) به‌دست آمد. بالاترین نیتروژن دانه به میزان ۳/۰۹درصد از تیمار N_5 (R116) حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای N3 و N4 نداشت و کمترین مقدار از تیمار شاهد حاصل شد. محتوای بالای نیتروژن دانه در تیمارهای تلقیح‌شده تأکیدی بر استفاده ریزوبیوم در مزارع لوبیاکاری است.

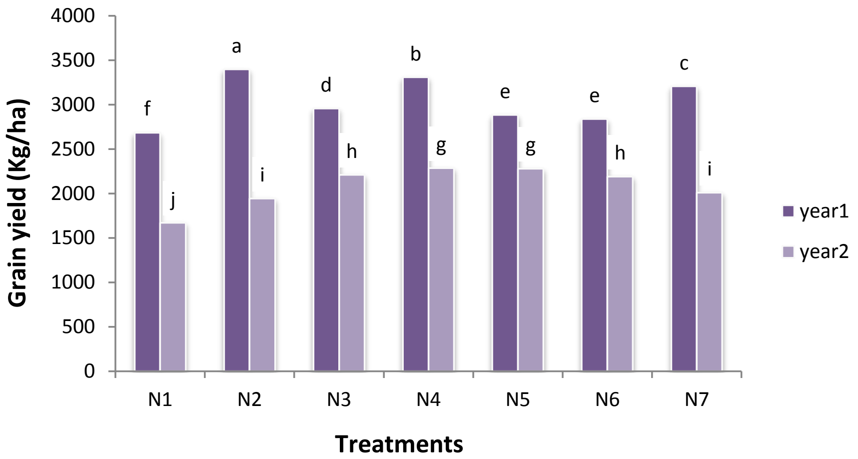
جدول ۵- مقایسه میانگین اثر نیتروژن بر صفات آزمایش

Table 5. Mean comparison test for effect of nitrogen on experimental characteristics

تیمارها Treatments	تعداد دانه در غلاف grain numbers per pod	نیتروژن دانه (درصد) Seed nitrogen content (%)
N_1	4.24 ^{d}	2.72 ^{d}
N_2	4.88 ^{a}	3.01 ^{b}
N_3	4.70 ^{b}	3.06 ^{a}
N_4	4.73 ^{b}	3.08 ^{a}
N_5	4.72 ^{b}	3.09 ^{a}
N_6	4.39 ^{c}	2.94 ^{c}
N_7	4.97 ^{a}	2.95 ^{c}
SEM[1]	043.0	0.015

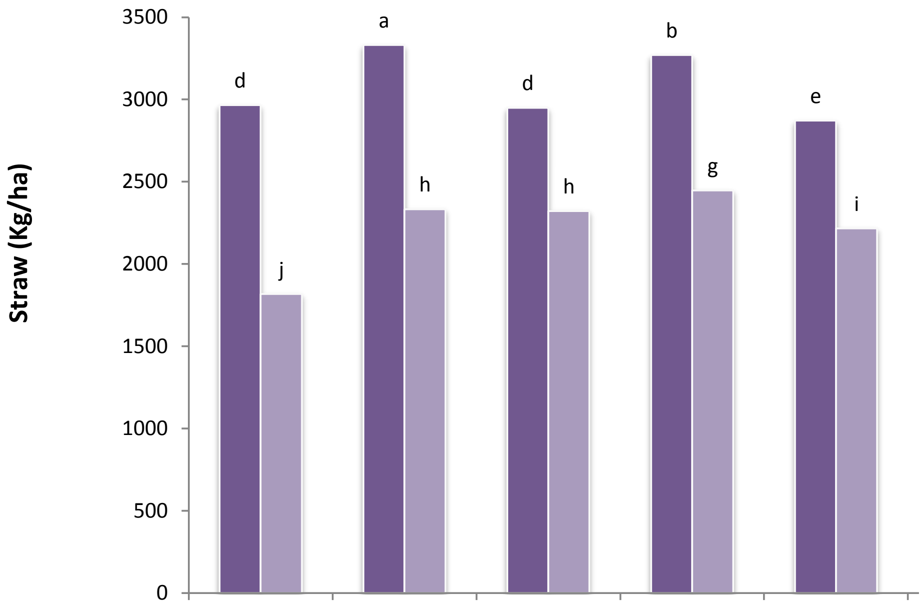
1. Standard Error Mean

۱- میانگین خطای استاندارد



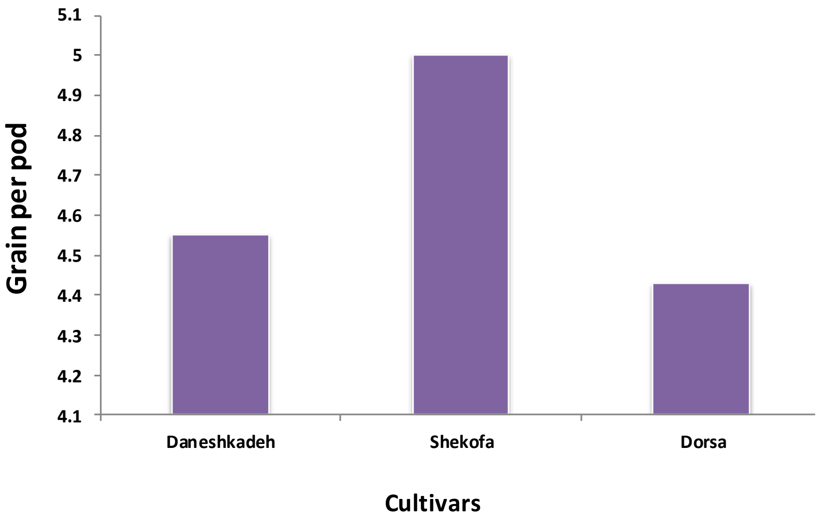
شکل ۲- تأثیر تیمارهای نیتروژن بر عملکرد دانه طی دو سال

Fig. 2. Effects of nitrogen treatments on grain yield during two years



شکل ۳- تأثیر تیمارهای نیتروژن بر عملکرد کاه طی دو سال

Fig. 3. Effects of nitrogen treatments on straw during two years



شکل ۴- اثر ارقام بر تعداد دانه در غلاف

Fig. 4. Effects of bean cultivars on number of grains per pod

اثر رقم بر تعداد دانه در غلاف (شکل۴) نشان داد که بیشترین تعداد (۵ عدد) از رقم V_2 (شکوفا) نتیجه شد که با ارقام دیگر تفاوت معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری

با توجه نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق می‌توان گفت که سویه‌های برتر به‌دلیل سازگارشدن به شرایط خاک، مؤثربودن در تثبیت نیتروژن در لوبیا و توانایی رقابت با سویه‌های بومی قابل استفاده هستند. از دیگر مزایای مصرف ریزوبیوم به‌غیر از تأمین نیتروژن، ترشح ماده رشد گیاهی و کاهش فعالیت عوامل بیماری‌زا

در ریزوسفر می‌باشد. با توجه به این‌که به ازای تثبیت هر کیلوگرم نیتروژن ۸ تا ۱۷کیلوگرم هیدرات کربن بـه مصـرف مـی‌رسـد در نتیجه می‌توان چنین برآورد نمود که ۱۰ تا ۴۰درصد از کربنی که طی فرآیند فتوسنتز در بقولات تثبیـت مـی‌شـود، صـرف تثبیـت نیتروژن می‌گردد. لذا معنـی‌دارنبـودن تفـاوت عملکـرد دانـه بـین تیمارهای ریزوبیوم با تیمار کودی را می‌توان این‌گونه توجیه نمـود که در واقع افزایش عملکرد ناشی از مصـرف ریزوبیـوم بـا کـاهش عملکرد ناشی از مصرف هیدرات‌هـای کـربن طـی فرآینـد تثبیـت نیتروژن به‌صورت متعادل درآمده و عملکرد دانه تقریباً ثابت بـاقی مانده است (Havelkak *et al*., 1982). با توجه به موارد ذکرشده استفاده از سویهR156 قابل‌توصیه می‌باشد.

منابع

1. Ali ehyaee, M., and Behbahanizadeh, A.A. 1993. Chemical Methods of Soil Analysis. Technical Report, No: 893. Soil and Water Research Institute.
2. Asadi Rahmani, H. 2010. Increasing the yield of been inoculated common bean with supplemental nitrogen fertilizer consumption. Final Report. No 89/13.
3. Bhattarai, N., Baral, B., Shrestha, G., and Yami, K.D. 2011. Effect of mycorrhiza and rhizobium on *Phaseolus vulgaris* L. Scientific World 9(9).
4. Dadivar, M., Khodshenas, M.A., and Ghadiri, A. 2007. Evaluation of *Rhizobium* strains effect on yield and yield components in red bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Proceedings of 2nd Iranian National Pulse Crops Symposium. Islamic Azad University. Science and Research Branch.
5. Dorri, H.R., and Ghadiry, A. 2010. 15th Development Plan of Khomein National Bean Research Station. Markazi Agricultural and Natural Resources Research and Training Center.
6. Ghadiry, A., Dadivar, M., Khodshenas, M.A., and Ghanbari, A.A. 2007. Effects of *Rhizobium* strains on morphological and phenological characteristics in Red Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Proceedings of 2nd Iranian national Pulse Crops Symposium. Islamic Azad University. Science and Research Branch.
7. Ghasemzadeh Ganjehie, M., and Asadi Rahmani, H. 2011. Evaluation of *Rhizobium* inoculant effect on the biological nitrogen fixation potential and common bean yield in Khorasan province. Proceedings of 4th Iranian National Pulse Crops Symposium. Arak.
8. Giller, K.E., and Wilson, K.Y. 1991. Nitrogen Fixation in Tropical Cropping System. CAB International UK.
9. Havelkak, V.D., Boyle, M.G., and Hardy, R.F.W. 1982. Biological Nitrogen Fixation. In: F.J. Stevenson (Ed.). Nitrogen in Agricultural Soils. Agronomy 22: 365-422. American Society of Agronomy, Madison, WI.
10. Hemmati, A., Asadi Rahmani, H., and Masoudi, Gh.H. 2012. Determination of *Rhizobium* bacteria strain for seed inoculating of bean in north of Fars. Journal of Plant Ecophysiology 5(12): 77-84.
11. Kabahuma, M.K. 2013. Enhancing Biological Nitrogen Fixation in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Master of Science. Iowa State University.
12. Khodshenas, M.A. 2004. Decreasing the Utilization of Nitrogen Fertilizers through Improvement the Biological Nitrogen Fixation (BNF) in Bean (*Phaseolus vulgaris*) Cropping Area. Final Report. Markazi Agricultural and Natural Resources Research and Training Center.
13. Khoshfetrat, G.R. 1998. Semi-Detailed Soil Survey and Classification of Khomein Plain. Technical Report, No: 1061. Soil and Water Research Institute.
14. Moshiri, F., Asadi Rahmani, H., and Afshari, M. 2003. Proceedings of 3rd National Conference on the Development in the Application of Biological Products & Optimum Utilization of Chemical Fertilizers & Pesticides in Agriculture. Karaj. Iran.
15. Robert, F.M., and Schmidt, E.L. 1983. Population changes and persist ence of *Rhizobium phaseoli* in siol and rhizospheres. Applied and Environmental Microbiology 45: 550-556.
16. Sakaka, W.D., Cadisch, G., and Giller, K.E. 2001. Productivity N_2-fixation and N balances in pigeonpea-maize intercrops in Malawi. Plant and Soil: In Press.
17. Tymoori, M., Madani, H., Khaghani, Sh., and Safapoor, M. 2011. Effect of *Mycorrhiza* and *Rhizobium* biofertilizers on yield and yield component in common bean (*Phaseolus vulgaris* L). Proceedings of 4th Iranian national Pulse CropsS. Arak.
18. Wagner, S.C. 2011. Biological Nitrogen Fixation. Nature Education Knowwl.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 9, No. 1, 2018, p. 165-176

Effect of inoculation with strains of *Rhizobium* and nitrogen levels on qualitative and quantitative characteristics and nitrogen of white bean varieties under climatic conditions of Markazi province

Dadivar[1*], M., Khodshenas[2], M.A. & Ghadbeyklou[2], J.

1. Soil and Water Department, Khorassan Razavi Agricultural and Resources Research and Training Center, AREEO, Mashhd, Iran
2. Soil and Water Department, Markazi Agricultural and Resources Research and Training Center, AREEO, Arak, Iran (khodshenasm@gmail.com, ghadbykloo@gmail.com, respectively)

Received: 25 April 2016
Accepted: 26 December 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v9i1.55164

Introduction

Legumes, such as common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) have the ability to form a symbiotic relationship with soil bacteria capable of trapping nitrogen gas (N_2) from the atmosphere and converting it into ammonia, which can be used by the plant for growth, development and seed production. The capacity of legumes to fix atmospheric nitrogen gives them an advantage over non-leguminous crops when grown on soils low in nitrogen. In many region of the world where common beans are grown, nitrogen fixation is limited by unfavorable soil conditions, temperature and water stress. Despite the numerous factors that comprise nodulation and nitrogen fixation, legumes generally assimilate 50% to 70% of their nitrogen via symbiotic nitrogen fixation. However, relative to other legumes, the common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) are poor nitrogen fixers. The role of biological fertilizers is important in improvement of organic farming. *Rhizobium* is an economically and environmentally friendly microorganism that is used as biofertilizer. Because the Markazi province is one of the most important areas for bean cultivation in the country, therefore understanding the appropriate rhizobium strains with white bean varieties recommended for cultivation in the region is important.

Materials & Methods

A field experiment was carried out based on a factorial randomized complete block design with three replications at Khomein Bean Research National Station (Longitude 49° 57' E, Latitude 33° 39' N and the height at the sea level 1930 m) in Markazi Province during 2010-2011. Treatments included as N_1 or control (without inoculation and N fertilizer), N_2 as = 100 kg N ha^{-1}, and five different rhizobium strains (N_3: R134, N_4: R156, N_5: R116, N_6: R133 and N_7: R109), and three white bean cultivars (V1: Daneshkadeh, V2: Shokoofa andV3: Dorsa). In bacterial treatments the 20 kg ha^{-1} N was used as starter. The plant samples were taken in two steps: 1) at the 50% flowering stage, the factors measured included: Shoot dry weight, N concentration and N uptake. 2) At the end of growing season stage the factors measured included: Shoot dry weight, N concentration, N uptake, number of pods per plant, number of seeds per pod, 100-seed weight and seed yield.

Results & Discussion

The results showed that cultivars had significant difference ($p<0.01$) on 100-seed weight, number of seeds per pod and dry matter weight, and there was significant difference ($p<0.05$) on number of pods per plant. *Rhizobium* inoculation and nitrogen levels showed significant differences ($p<0.01$) on grain nitrogen, dry matter weight, flowering stage nitrogen, flowering stage dry matter weight and straw nitrogen, and there was significant difference ($p<0.05$) on number of grains per pod. For the interaction between cultivars and rhizobium, there were significant differences ($p<0.01$) on 100-grain weight, dry matter weight at flowering stage, dry matter weight and straw nitrogen ($p<0.05$) on number of pods_per plant at flowering stage nitrogen. The maximum and the minimum values of 100-grain weight obtained from V3N4 and V1N5 treatments amounts were 32.01 and 26.72 g, respectively. The maximum and the minimum values of pods per plant, obtained from V3N2 and V2N1 treatments counted were 10.7 and 6.6, respectively. The maximum

[*]**Corresponding Author:** dadivarm@yahoo.com

dry matter weight obtained from V2N4 treatment was 209.3 g and the minimum dry matter weight belonged to V2N1 treatments was 97.3 g. The maximum nitrogen concentration gained belonged to V3N4 treatment, with 1.97 percent and the minimum nitrogen concentration belonged to V3N1 treatment, with 1.08 percent at the flowering stage. Among the rhizobium strains, the maximum grain yield and straw yield which were obtained from R156 strain amounted to 3308.3 and 3271.1 kg ha^{-1}, respectively. The maximum amount of grain N concentration (3.09%) obtained from R116 strain. The high amount of grain nitrogen in the inoculated treatments emphasizes the use of rhizobium in the bean planted farms.

Conclusion

Based on this study, rhizobium inoculation for new released beans for varieties of climbing bean production are of paramount importance, especially for farmers with limited resource in areas where land is scarce and productivity is low due to nutrients depletion. R156 strains recommended for this climatic conditions, because not only attainment of high grain yield, but also grain nitrogen content is at the upper limit. Thus rhizobium inoculation and supplementation with other nutrients such as phosphorus and potassium have constructive effect in improving photosynthesis, nutrient uptake, nodulation, growth, yield and economic benefits in beans. Also, the use of rhizobium other than nitrogen supply, reduces the activity of pathogens and increases the secretion of growth hormone. Thus, the inoculation with rhizobium for the resource poor farmers to enhance biological nitrogen fixation for small and large scale production of legume is strongly recommended in Iran.

Key words: Biofertilizer, Pulse, Quality, Yield